

# **Real-world-Daten zu BRCA1/2- und HRR-Mutationen bei Patienten mit Prostatakarzinom**

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades (Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

**Moritz Dominik Hommerding**

aus Würselen

2026

Angefertigt mit der Genehmigung  
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Glen Ole Kristiansen
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Guido Hartmut Fechner

Tag der Mündlichen Prüfung: 22.04.2026

Aus dem Institut für Pathologie

## Inhaltsverzeichnis

	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	4
<b>1.</b>	<b>Deutsche Zusammenfassung</b>	6
1.1	Einleitung	6
1.2	Material und Methoden	9
1.3	Ergebnisse	10
1.4	Diskussion	12
1.5	Zusammenfassung	15
1.6	Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	16
<b>2.</b>	<b>Veröffentlichung</b>	19
<b>3.</b>	<b>Erklärung zum Eigenanteil</b>	20
<b>4.</b>	<b>Danksagung</b>	21
<b>5.</b>	<b>Publikation (PDF-Version)</b>	22

## Abkürzungsverzeichnis

ADT	Androgendeprivationstherapie
ARPI	Androgenrezeptor-Signalweg-Inhibitoren
ATM	Ataxia Telangiectasia Mutated
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften
BRCA1	BReast CAncer 1
BRCA2	BReast CAncer 2
BRIP1	BRCA1-Interacting Protein 1
CDK12	Cyclin-Dependent Kinase 12
CHEK2	CHEckpoint Kinase 2
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EMA	European Medicines Agency
FANCA	Fanconi ANaemia, Complementation group A
FDA	Food and Drug Administration
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
HDAC2	Histone DeACetylase 2
HRD	Homologe Rekombinationsdefizienz
HRR	Homologe Rekombinationsreparatur
ISUP	International Society of Urological Pathology
mCRPC	metastasiertes kastrationsresistentes Prostatakarzinom
mHSPC	metastasiertes hormonsensitives Prostatakarzinom

nmCRPC	nichtmetastasiertes kastrationsresistentes Prostatakarzinom
NGS	Next Generation Sequencing
PALB2	Partner And Localizer of BRCA2
PARPi	Poly(ADP-Ribose)-Polymerase-Inhibitoren
PCa	Prostatakarzinom
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
RKI	Robert-Koch-Institut
rPFS	radiologisch progressionsfreies Überleben
UICC	Union Internationale Contre la Cancer

# 1. Deutsche Zusammenfassung

## 1.1 Einleitung

Das Prostatakarzinom (PCa) ist mit etwa 1,4 Millionen neuer Diagnosen die am zweithäufigsten diagnostizierte bösartige Erkrankung sowie die fünfhäufigste Todesursache bei Krebserkrankungen unter Männern weltweit (Sung et al., 2021). Mit voraussichtlich über 300.000 Neuerkrankungen in den Vereinigten Staaten für das Jahr 2025 bleibt das Prostatakarzinom dort die mit Abstand häufigste Krebserkrankung sowie die zweithäufigste Todesursache bei Krebserkrankungen unter Männern (Siegel et al., 2025). In 48 von 185 Ländern ist das Prostatakarzinom die häufigste krebsbedingte Todesursache bei Männern (Sung et al., 2021). In Deutschland wurden in den Jahren 2019-2020 83 % der Erstdiagnosen in den UICC-Stadien I-III gestellt, in welchen das relative 5-Jahres-Überleben bei über 99 % liegt. Daneben beträgt das 5-Jahres-Überleben bei Erstdiagnose im UICC-Stadium IV nur 54 % (RKI, 2023). Insbesondere für Patienten mit einem metastasierten kastrationsresistenten Prostatakarzinom (mCRPC) besteht eine schlechte Prognose (Moreira et al., 2017; Shore et al., 2021).

Stellt sich nach auffälliger digital-rektaler Tastuntersuchung, erhöhtem PSA-Wert oder auffälligem PSA-Anstieg der Verdacht auf ein Prostatakarzinom, sollte eine Prostata-Stanzbiopsie zur Diagnosesicherung erfolgen (AWMF S3-Leitlinie Prostatakarzinom 2024). Bestätigt sich in der Stanzbiopsie der Verdacht, wird mittels PSA-Wert, Gleason-Score und klinischem Tumorstadium eine Risikostratifizierung in Niedrig-, Mittel- und Hochrisiko-Gruppen nach D'Amico vorgenommen, welche dann in der weiteren Therapieplanung berücksichtigt wird (D'Amico et al., 1998).

Die Behandlung des nichtmetastasierten lokalen Prostatakarzinoms unterscheidet sich von der des rezidierten sowie der des metastasierten Prostatakarzinoms. Beim nichtmetastasierten Prostatakarzinom kommen eine Operation, eine Bestrahlung sowie eine primäre hormonablative Therapie als Therapieoptionen in Betracht. Bei der Behandlung des metastasierten Prostatakarzinoms unterscheidet man wiederum zwischen der des metastasierten hormonsensitiven Prostatakarzinoms (mHSPC) und der des metastasierten kastrationsresistenten Prostatakarzinoms (mCRPC). Beim mHSPC

kommt dabei primär eine Androgendeprivationstherapie (ADT) im Sinne einer chirurgischen Kastration (bilaterale Orchiektomie) oder chemischen Kastration durch Gonadotropin-Releasing-Hormon(GnRH)-Agonisten oder -Antagonisten zum Einsatz, welche mit weiteren antiandrogenen Substanzen, wie dem selektiven CYP17A1-Inhibitor Abirateron oder Androgenrezeptor-Signalweg-Inhibitoren (ARPI) (z.B. Apalutamid, Enzalutamid, Darolutamid), und einer Chemotherapie (Docetaxel) kombiniert werden können (AWMF S3-Leitlinie Prostatakarzinom 2024).

Kommt es trotz ADT und hierunter bestehenden Testosteronspiegeln  $< 50$  ng/ml zu einem biochemischen und/oder bildgebendem Progress, liegt ein metastasiertes kastrationsresistentes Prostatakarzinom (mCRPC) vor (AWMF S3-Leitlinie Prostatakarzinom 2024). Dieser Krankheitsverlauf ist bei 10-20 % der Patienten in einem Zeitraum über 5 Jahren zu beobachten (Kirby et al., 2011).

Beim nichtmetastasierten kastrationsresistenten Prostatakarzinom (nmCRPC) wird in der aktuellen AWMF-S3-Leitlinie aufgrund der biologischen Heterogenität mit kastrationsresistenten und möglicherweise noch hormonsensitiven Tumorzellen eine Fortführung der ADT sowie das Anbieten einer Therapie mit einem Androgenrezeptor-Signalweg-Inhibitor (ARPI) empfohlen, wohingegen beim mCRPC vor Beginn einer systemischen Therapie zum Nachweis oder Ausschluss einer homologen Rekombinationsdefizienz (HRD) eine Sequenzierung von Genen der homologen DNA-Rekombination (homologe Rekombinationsreparatur (HRR)) erfolgen soll (AWMF S3-Leitlinie Prostatakarzinom 2024).

Hierzu gehören die HRR-Gene ATM, BRCA1, BRCA2, BRIP1, CDK12, CHEK2, FANCA, HDAC2 und PALB2, in welchen sowohl eine Keimbahnmutation als auch eine somatische Mutation im Tumorgewebe vorkommen kann. In Abhängigkeit des untersuchten Gewebes (Primärtumor oder Metastase) können in 19-33 % der Prostatakarzinome Mutationen in Genen zur DNA-Reparatur gefunden werden, wobei BRCA-2-Mutationen am häufigsten zu finden sind (Abeshouse et al., 2015; Abida W. et al., 2017; Robinson et al., 2015; Taylor et al., 2010).

Diese bieten einen Ansatz zur Therapie mit Poly-ADP-Ribose-Polymerase (PARP)-Inhibitoren (PARPi), wie beispielsweise Olaparib (Lynparza®). Nachdem in der

PROfound-Studie bei Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom mit Krankheitsprogress unter Behandlung mit Abirateron oder Enzalutamid sowie Nachweis einer HRR-Mutation eine signifikante Verlängerung des radiologisch progressionsfreien Überlebens (rPFS) und der medianen Gesamtüberlebenszeit unter Olaparib gezeigt werden konnte, wurde dieses im Mai 2020 von der FDA (Food and Drug Administration) und im November 2020 von der EMA (European Medicines Agency) als Monotherapie beim mCRPC unter Progress nach Therapie mit einem ARPI zugelassen (de Bono et al., 2020). Da in der PROfound-Studie insbesondere Patienten mit einer BRCA1- oder BRCA2-Mutation von einer Therapie mit Olaparib profitierten, erfolgte die Zulassung durch die EMA zunächst auf dieses Patientenkollektiv beschränkt. In weiteren Untersuchungen derselben Arbeitsgruppe konnte auch für andere HRR-Alterationen eine signifikante Verlängerung des rPFS gezeigt werden (Hussain et al., 2020). Die Zulassung durch die FDA von Olaparib zur Therapie des mCRPC erfolgte auch für weitere HRR-Mutationen (ATM, BRCA1, BCRA2, BARD1, BRIP1, CDK12, CHEK1, CHEK2, FANCL, PALB2, RAD51B/C/D, RAD54L). Nebenwirkungen nach CTCAE-Schweregrad > 3 konnten in der PROfound-Studie unter Olaparib bei 51 % gegenüber 38 % in der Kontrollkohorte beobachtet werden. Davon traten als häufigste Nebenwirkungen unabhängig des Schweregrades Anämie (46 %), Übelkeit (41 %), Fatigue/Asthenie (41 %), verminderter Appetit (30 %), Durchfall (21 %), Erbrechen (18 %) und Obstipation (18 %) auf. Aufgrund von Nebenwirkungen musste in 45% der Behandlungen die Therapie mit Olaparib pausiert werden, in 22 % die Dosierung reduziert werden und in 18 % die Behandlung beendet werden. In 4 % kam es zu Todesfällen im Rahmen von Nebenwirkungen unter der Therapie mit Olaparib (de Bono et al., 2020).

Auf Basis der PROpel-Studie, bei welcher eine signifikante Verlängerung des rPFS (25,0 vs. 16,4 Monate) sowie der Gesamtüberlebenszeit (42,1 vs. 34,7 Monate) unter Abirateron (+Prednison/Prednisolon) in Kombination mit Olaparib gegenüber Abirateron (+Prednison/Prednisolon) und Placebo gezeigt werden konnte, erfolgte die Zulassung von Olaparib zur Behandlung des mCRPC als Kombinationstherapie mit Abirateron (+Prednison/Prednisolon) bei Patienten mit mCRPC mit BRCA-Mutation durch die FDA im Mai 2023 (Saad et al., 2023). Schwere Nebenwirkungen mit CTCAE-Schweregrad > 3 traten in der Abirateron/Olaparib-Kohorte mit 47,2 % gegenüber 38,4 % in der

Abirateron/Placebo-Kohorte auf (Saad et al., 2023). Durch die EMA erfolgte die Zulassung für Patienten mit mCRPC auch ohne Nachweis einer BRCA1/2-Alteration, sofern noch keine Behandlung mit ARPI erfolgt sowie „eine Chemotherapie klinisch nicht indiziert“ ist, wobei die die Bezeichnung „klinisch nicht indiziert“ nicht einheitlich festgelegt wurde (AWMF S3-Leitlinie Prostatakarzinom 2024). In weiteren Studien konnten ähnliche Erfolge auch für Niraparib (Zejula®) mit Abirateron (+Prednison/Prednisolon) und für Talazoparib (Talzenna®) mit Enzalutamid gezeigt werden (Agarwal et al., 2023; Chi et al., 2023). Hierauf wurde in der 2024 aktualisierten AWMF-S3-Leitlinie Prostatakarzinom die Empfehlung um die Kombinationstherapien Niraparib/Abirateron (+Prednison/Prednisolon), Olaparib/Abirateron (+Prednison/Prednisolon) und Talazoparib/Enzalutamid ergänzt für Patienten mit Nachweis einer BRCA1/2-Mutation, für welche keine Chemotherapie in Frage kommt.

Das Ziel der Arbeit war die Generierung von Real-world-Daten zur Prävalenz von HRR-Mutationen im Prostatakarzinom, um diese mit den Ergebnissen der Literatur zu vergleichen. Zudem sollten Daten zur Eignung verschiedener Gewebeproben und -arten für die DNA Sequenzierung erhoben werden.

## 1.2 Material und Methoden

Für die retrospektive Analyse der Prävalenz von BRCA1/2- und HRR-Mutationen im Prostatakarzinom wurden alle am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn untersuchten Fälle seit der Etablierung der Untersuchungsmethode im September 2018 bis zum Dezember 2023 eingeschlossen. 197 Fälle konnten identifiziert werden. Alle Fälle waren auf klinischen Wunsch untersucht worden. Das mediane Patientenalter in der Kohorte betrug 71 Jahre (39-89), der mediane initiale PSA-Wert betrug 30 ng/ml (0,3-10.000) und die mediane Tumorgraduierungsgruppe nach ISUP war 4 (Variationsbreite 1-5). Der Großteil der Patienten war zum Zeitpunkt der molekularen Testung klinisch als mCRPC diagnostiziert (n=171, 86,8 %). Zu 55 Patienten lagen histopathologische Daten des radikalen Prostatektomiepräparates vor. Die mediane Tumorgraduierungsgruppe nach ISUP betrug 4 (Variationsbreite 1-5). Eine auf die Prostata begrenzte Tumorausbreitung lag in 12 Fällen (21,8 %), eine extraprostatistische Ausbreitung in 13

Fällen (23,6 %) und eine Infiltration der Samenblasen in 29 Fällen (52,7 %) vor. Ein Fall (1,8 %) zeigte eine Infiltration der Harnblase. 21 Fälle (38,2 %) zeigten eine nodale Metastasierung in inguinale Lymphknoten. Ein tumorbefallener Resektionsrand wurde in 28 Fällen (50,9 %) festgestellt.

Die DNA-Isolation, Sequenzierung und Datenanalyse erfolgte in der Sektion Molekularpathologie am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn. Hierzu wurde an einem HE-Schnittpräparat der Tumorzellgehalt quantifiziert und zwecks Durchführung einer Makrodissektion die Tumordinfiltration markiert. Die DNA-Isolation erfolgte mittels des Maxwell RSC DNA FFPE Kit (Promega, Madison, Wisconsin, USA). Die Sequenzierung wurde mittels next generation sequencing (NGS) an einem MiSeq System (Illumina, San Diego, USA) mit einer Coverage von > 100 durchgeführt. Für die Erstellung der Bibliotheken wurde ein QIAseq™ targeted DNA BRCAness custom panel genutzt (Qiagen, Hilden, Deutschland), welches 8 Gene der homologen Rekombinationsreparatur beinhaltet (ATM, BRCA1, BRCA2, CDK12, CHEK2, FANCA, HDAC2, PALB2). Die gesamte kodierende Sequenz dieser Gene wurde abgedeckt. Insgesamt umfasste die Länge der sequenzierten Bereiche 38450 Basenpaare. Die Datenanalyse wurde durch die Sektion Molekularpathologie durchgeführt. Hierzu wurde die Software CLC Genomics Workbench/Server (Qiagen Bioinformatics, Hilden, Deutschland) genutzt. Synonyme Varianten, intronische Varianten, welche nicht die Splice Stellen betreffen und Varianten mit einer Allelfrequenz von < 1 % wurden herausgefiltert. Eindeutige benigne Varianten wurden nicht berichtet. Alle pathogenen und vermutlich pathogenen Mutationen, nachfolgend auch als therapierbare Mutationen bezeichnet, mit einer Allelfrequenz von > 5 % wurden berichtet. Die Klassifikation der Varianten erfolgte durch einen Abgleich mit den gängigen Mutationsdatenbanken (dbSNP, ExAC, COSMIC, ClinVar, OncoKB, UMD-BRCA1/2). Die statistische Auswertung der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Daten sowie die Erstellung der Abbildungen erfolgte mit dem Programm Prism, Version 10.2.2 (GraphPad Software, Boston, USA).

### 1.3 Ergebnisse

Die Analyse der untersuchten Probenarten ergab, dass überwiegend Gewebe von den Primärtumoren (n=111, 56,3 %) untersucht wurde, gefolgt von Metastasengewebe (n=76,

38,6 %) und Gewebe aus Lokalrezidiven (n=10, 5,1 %). Prostatastanzbiopsien waren das am häufigsten untersuchte Material (n=68, 34,5 %), gefolgt von Gewebe aus dem radikalen Prostatektomiepräparat (n=23, 11,7 %) und Gewebe aus einer transurethralen Resektion der Prostata (TUR-P) (n=20, 10,2 %). Das Metastasengewebe bestand überwiegend aus Knochenmetastasen (n=55, 27,9 %), gefolgt von distanten Lymphknotenmetastasen (n=9, 4,6 %), Lebermetastasen (n=5, 2,5 %) und seltenen Lokalisationen wie pleuralen, pulmonalen, gastrointestinalen oder weichgewebigen Metastasen (gesamhaft n=7, 3,6 %).

Die DNA-Qualität war in den meisten Fällen ausreichend zur Durchführung der Sequenzierung. Lediglich in 14 Fällen (7,1 %) konnte eine Sequenzierung nicht erfolgreich durchgeführt werden. Bei nahezu allen Proben (n=13) mit mangelhafter DNA-Qualität handelte es sich um Proben von Primärtumoren, sodass vermutet werden muss, dass eine altersbedingte Degradation von Nukleinsäuren ursächlich ist.

Anschließend wurde die Verteilung der Mutationen analysiert. Insgesamt konnten 110 Mutationen in 79 Tumoren detektiert werden. Einzelne Tumoren enthielten mehr als eine Mutation: bei 17 Tumoren (9,3 %) konnten 2 Mutationen, und bei 7 Tumoren (3,8 %) 3 Mutationen nachgewiesen werden.

Die Verteilung aller detektierten Mutationen, also vermutlich benignen Varianten, Varianten unklarer Signifikanz, vermutlich pathogener und pathogener Mutationen, kann der Abbildung 2A aus der Publikation entnommen werden und unterteilte sich wie folgt: 26 ATM Mutationen (14,2 %), 21 BRCA2 Mutationen (11,5 %), 21 CHEK2 Mutationen (11,5 %), 13 CDK12 Mutationen (7,1 %), 8 FANCA Mutationen (4,4 %), 4 PALB2 Mutationen (2,2 %), 3 BRCA1 Mutationen (1,6 %) und 1 HDAC2 Mutation (0,5 %). Die Bedeutung von Varianten unklarer Signifikanz (VUS) ist nach aktuellem Kenntnisstand noch unklar und bedarf weiterer Untersuchungen. Nur für pathogene und vermutlich pathogene Mutationen liegt eine Therapieindikation vor. Der Anteil an therapierbaren Mutationen lag insgesamt bei 43,6 % (n=48) und unterteilte sich wie folgt (Fig. 2B): 11 ATM Mutationen (6,0 %), 10 CHEK2 Mutationen (5,5 %), 8 BRCA2 Mutationen (4,4%), 8 CDK12 Mutationen (4,4 %), 2 PALB2 Mutationen (1,1 %), 1 FANCA Mutation (0,6 %) und 1 BRCA1 Mutation (0,6 %). Zusammenfassend konnten in 20,8 % der Fälle (n=38) therapierbare Mutationen in BRCA1/2 oder den Genen der HRR nachgewiesen werden,

sodass für diese Fälle eine Zulassung für eine PARPi Therapie gemäß der FDA Zulassung vorläge. Etwa 5 % der Fälle zeigten therapierbare BRCA1/2-Mutationen, welche eine Therapieoption gemäß der EMA Zulassung eröffnen würde. Eine weitergehende Auswertung von Primär- und Metastasengewebe ergab, dass die Prävalenz von therapierbaren Mutationen im Metastasengewebe höher war als im Primärgewebe (25,0 % vs. 19,4 %), wobei dieser Unterschied nicht signifikant war ( $p=0,37$ , Chi-Quadrat-Test).

#### 1.4 Diskussion

Die vorliegende Arbeit hat die Prävalenz von BRCA1/2- und HRR-Mutationen im Prostatakarzinom durch eine retrospektive Auswertung von 197 Fällen am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn untersucht.

Aus der Verteilung des untersuchten Tumorgewebes wird eine Diskrepanz zwischen dem untersuchten Tumorgewebe und dem klinischen Krankheitsstadium deutlich. Während der überwiegende Anteil der Patienten sich in einem fortgeschrittenen, kastrationsresistenten Krankheitsstadium (mCRPC) befand ( $n=171$ , 86,6 %), wurden überwiegend die Primärtumoren untersucht, welche als hormonsensitive Tumoren gelten (HSPC). Nur bei 40,1 % ( $n=79$ ) der Patienten wurde eine aktuelle Tumorprobe untersucht, welche dem klinischen Krankheitsstadium eines mCRPC entsprach.

Bezüglich der Prävalenz von therapierbaren Mutationen zeigte sich eine nicht signifikant höhere Prävalenz im Metastasengewebe verglichen zum Primärgewebe (25,0 % vs. 19,4 %). Die Wahrscheinlichkeit, eine zielgerichtete Therapie mit einem PARP-Inhibitor durchführen zu können, ist bei der Untersuchung von Metastasengewebe somit gering höher. Die Daten aus dieser Arbeit sprechen für die Durchführung einer Biopsie einer Metastase, falls lediglich das Primärgewebe für eine Untersuchung vorliegen sollte. Zudem konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass selbst an kleinen Knochenbiopsaten eine zuverlässige Mutationsanalyse durchgeführt werden kann. Dagegen handelte es sich bei den bezüglich ihrer DNA-Qualität mangelhaften Proben fast ausschließlich um Primärgewebe, welches aufgrund des fortgeschrittenen Probenalters häufiger degeneriert zu sein scheint. Die klinische Praxis zeigt, wie oben beschrieben,

dass häufiger das Primärgewebe untersucht wird und auf eine Biopsie einer Metastase verzichtet wird. Als Grund hierfür kommt in erster Linie das Fehlen einer eindeutigen Handlungsempfehlung in den Leitlinien in Frage, sodass die Untersuchung von archiviertem Material vermutlich präferiert wird, da eine erneute Biopsie einer Metastase mit Risiken, Mehraufwand und Kosten verbunden ist. Weiterhin ist zu bedenken, dass Mutationen, welche während der Progression in ein metastasiertes Stadium entstehen, in einer Untersuchung von Primärgewebe nicht erfasst werden können. Abschließend stellt sich die Frage, inwieweit die zusätzlichen Risiken, der Mehraufwand und die Kosten in Relation zu einer nur leicht erhöhten Wahrscheinlichkeit zur Durchführung einer PARP-Inhibitor stehen.

Verglichen mit den Daten der bislang publizierten Studien konnte eine ähnliche Prävalenz von therapierbaren Mutationen in Genen der homologen Rekombinationsreparatur von etwa 21 % detektiert werden (Abida et al., 2019; Armenia et al., 2018; Mateo et al., 2015; Quigley et al., 2018). Alterationen von BRCA2 sind in der Literatur mit 12,7 % als die häufigste therapierbare Alteration in Genen der homologen Rekombinationsreparatur beim metastasierten kastrationsresistenten Prostatakarzinom beschrieben. Hierbei handelt es sich überwiegend um Mutationen, in 20 % jedoch auch um homozygote Deletionen. Die Prävalenz von BRCA2-Alterationen fällt bei den hormonsensitiven Tumoren mit 3 % deutlich niedriger aus (Abeshouse et al., 2015). In der vorliegenden Arbeit konnten BRCA2-Mutationen in 4,4 % der Fälle nachgewiesen werden. Diese Diskrepanz ist erklärbar durch die nicht homogene Zusammensetzung der Kohorte, welche aus hormonsensitiven Primärtumoren, Metastasengewebe und Gewebe aus Lokalrezidiven zusammengesetzt ist. Zudem können größere homozygote Deletionen durch die in der vorliegenden Arbeit genutzte Methode des next generation sequencing nicht nachgewiesen werden, was die niedrigere Prävalenz der BRCA2-Alterationen erklärt. Abschließend ist die Anzahl der Gene des in dieser Arbeit verwendeten Genpanels limitiert und umfasst nicht alle Gene der homologen Rekombinationsreparatur, sodass die Mutationsprävalenz aller HRR Gene möglicherweise unterschätzt ist. Letzteres hat für die Therapie mit Olaparib im europäischen Raum keine praktische Relevanz, da durch die EMA lediglich eine Zulassung für BRCA1/2-mutierte Tumoren vorliegt. Die Zulassung für Olaparib durch die FDA umfasst deutlich mehr Gene, von denen die Gene BARD1,

BRIP1, CHEK1, FANCL, RAD51B, RAD51C, RAD51D und RAD54L nicht durch das in dieser Arbeit verwendete Genpanel abgedeckt sind.

Die in der vorliegenden Arbeit höchste Prävalenz an therapierbaren Mutationen konnte im Gen ATM detektiert werden. Für Mutationen in diesem Gen liegt eine Zulassung für Olaparib durch die FDA vor, welche sich auf der PROFOUND-Studie begründet (de Bono et al., 2020). 68 Patienten mit einer therapierbaren Mutation im Gen ATM waren in Kohorte A der Studie eingeschlossen. Die Patienten mit einer Olaparib Therapie (n=62) zeigten hier bildgebend ein längeres progressionsfreies Überleben im Vergleich zur Kontrollgruppe (n=24). Auch das Gesamtüberleben war mit Olaparib Therapie länger (Hussain et al., 2020). In Folgestudien war der Therapieeffekt im Vergleich zu BRCA1/2-alterierten Tumoren jedoch deutlich schwächer ausgeprägt, sodass der Nutzen einer PARP-Inhibition beim Nachweis einer ATM-Mutation zurzeit umstritten ist (Marshall et al., 2019).

Die zweithäufigste therapierbare Mutation konnte im Gen CHEK2 nachgewiesen werden. Für Mutationen in diesem Gen liegt eine Zulassung für Olaparib durch die FDA vor, welche sich auf der PROFOUND-Studie begründet (de Bono et al., 2020). 12 Patienten mit einer therapierbaren Mutation im Gen CHEK2 waren in Kohorte B der Studie eingeschlossen. Die Patienten mit einer Olaparib Therapie (n=7) zeigten bildgebend ein längeres progressionsfreies Überleben im Vergleich zur Kontrollgruppe (n=5), obgleich dieser Unterschied nicht statistisch signifikant war (de Bono et al., 2020). Bezüglich des Gesamtüberlebens konnte letztlich kein Unterschied festgestellt werden (Hussain et al., 2020). Eine Zulassung durch die EMA liegt derzeit nicht vor. Zusammenfassend liegt eine unzureichende Evidenz bezüglich einer PARPi Therapie bei Nachweis einer CHEK2 Mutation vor.

Die dritthäufigste therapierbare Mutation konnte im Gen CDK12 nachgewiesen werden. Auch für Mutationen in diesem Gen liegt eine Zulassung für Olaparib durch die FDA vor, welche sich ebenfalls auf der PROFOUND-Studie begründet (de Bono et al., 2020). 89 Patienten mit einer therapierbaren Mutation im Gen CDK12 waren in Kohorte B der Studie eingeschlossen. Die Patienten mit einer Olaparib Therapie (n=61) zeigten hier bildgebend ein längeres progressionsfreies Überleben im Vergleich zur Kontrollgruppe (n=28). Auch

das Gesamtüberleben war mit Olaparib Therapie länger (Hussain et al., 2020). In einer weiteren kleineren Studie konnte kein Therapieansprechen durch eine PARPi-Therapie beobachtet werden (Antonarakis et al., 2020). Stattdessen liegen vielversprechende Daten zur Immuntherapie vor, welche sich womöglich durch eine vermehrte Neoantigenbildung in CDK12-mutierten Tumoren erklären lassen (Antonarakis et al., 2020; Wu et al., 2018).

### 1.5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde mit dem Ziel der Generierung von Real-world-Daten die Prävalenz von BRCA1/2- und HRR-Mutationen im Prostatakarzinom durch eine retrospektive Auswertung von 197 Fällen am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn untersucht. Alle Proben waren auf klinischen Wunsch und mittels next generation sequencing analysiert worden. Folgende Gene waren in der Untersuchung inkludiert: ATM, BRCA1, BRCA2, CDK12, CHEK2, FANCA, HDAC2, PALB2. Der Großteil der Patienten wurde zum Zeitpunkt der Testung dem Krankheitsstadium eines metastasierten kastrationsresistenten Prostatakarzinoms (mCRPC) zugeordnet. Die molekulare Testung wurde stattdessen überwiegend an den hormonsensitiven Primärtumoren durchgeführt. Nur bei 40 % der Patienten wurde eine Tumorprobe untersucht, welche dem Krankheitsstadium eines mCRPC entsprach. Die Qualität und Quantität der DNA der Tumorproben war größtenteils ausreichend zur Durchführung der Untersuchung. Nur in 7 % der Proben konnte die Untersuchung aufgrund von mangelhafter DNA-Qualität nicht durchgeführt werden, wobei es sich hierbei nahezu ausschließlich um Gewebe von Primärtumoren gehandelt hat. Dies belegt, dass Biopsate von Metastasengewebe, insbesondere Biopsate von Knochenmetastasen, welche konventionell-morphologisch häufig nur wenige Tumorzellverbände zeigen, gut für die molekulare Testung geeignet sind. Die retrospektive Analyse ergab insgesamt 110 Mutationen in BRCA1/2 oder Genen der HRR in 79 Tumoren, von denen jedoch nicht alle als therapierbar eingeordnet wurden. Die häufigsten therapierbaren Mutationen fanden sich im Gen ATM, gefolgt von CHEK2, BRCA2 und CDK12. Es konnte eine pathogene BRCA1 Mutation detektiert werden. Insgesamt zeigten etwa 21 % der Fälle therapierbare Mutationen in BRCA1/2 oder Genen der HRR, sodass diese für eine Therapie mit PARP-

Inhibitoren gemäß der FDA Zulassung infrage kämen. Nur etwa 5 % der Tumoren zeigten therapierbare BRCA1/2-Mutationen, sodass hier eine Therapieoption gemäß der EMA Zulassung vorläge. Verglichen mit den bisher publizierten Daten ist die Prävalenz von therapierbaren BRCA1/2-Mutationen in der vorliegenden Studie geringer. Diese Diskrepanz ist erklärbar durch die nicht homogene Zusammensetzung der Kohorte, welche aus hormonsensitiven Primärtumoren, Metastasengewebe und Gewebe aus Lokalrezidiven zusammengesetzt ist. Die Prävalenz von therapierbaren BRCA1/2-Mutationen ist in Primärtumoren nachweislich deutlich niedriger als im Metastasengewebe (Abeshouse et al., 2015; Robinson et al., 2015). Zudem können genomische Deletionen, welche etwa 20 % der BRCA1/2-Alterationen ausmachen, mit der verwendeten Methode nicht detektiert werden. Abschließend sind die erhobenen Daten unter Berücksichtigung der oben genannten Einschränkungen jedoch im Wesentlichen kongruent zu den bisher publizierten Daten. Zudem liefern sie wertvolle Einblicke in das klinische Management mit der neuen Therapieoption einer PARP-Inhibition und der dafür notwendigen molekularen Testung.

#### 1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Abeshouse A, Ahn J, Akbani R, ..., Zmuda, E. The Molecular Taxonomy of Primary Prostate Cancer. *Cell* 2015; 163: 1011–1025.

Abida W, Armenia J, Gopalan A, ..., Solomon SB. Prospective Genomic Profiling of Prostate Cancer Across Disease States Reveals Germline and Somatic Alterations That May Affect Clinical Decision Making. *JCO Precis Oncol* 2017; 1: 1-26.

Abida W, Cyrta J, Heller G, ..., Sawyers, CL. Genomic correlates of clinical outcome in advanced prostate cancer. *Proc Indian Natl Sci Acad B Biol Sci* 2019; 116: 11428–11436.

Agarwal N, Azad AA, Carles J, ..., Fizazi K. Talazoparib plus enzalutamide in men with first-line metastatic castration-resistant prostate cancer (TALAPRO-2): a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2023; 402: 291–303.

Antonarakis ES, Velho PI, Fu W, ..., Hussain M. CDK12-Altered Prostate Cancer: Clinical Features and Therapeutic Outcomes to Standard Systemic Therapies, Poly (ADP-Ribose) Polymerase Inhibitors, and PD-1 Inhibitors. *JCO Precis Oncol* 2020; 4: 370–381.

Armenia J, Wankowicz SAM, Liu D, ..., Van Allen EM. The long tail of oncogenic drivers in prostate cancer. *Nat Genet* 2018; 50: 645–651.

Chi KN, Sandhu S, Smith MR, ..., Efstathiou E. Niraparib plus abiraterone acetate with prednisone in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer and homologous recombination repair gene alterations: second interim analysis of the randomized phase III MAGNITUDE trial. *Ann Oncol* 2023; 34: 772–782.

D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, Tomaszewski JE, Renshaw AA, Kaplan I, Beard CJ, Wein A. Biochemical Outcome After Radical Prostatectomy, External Beam Radiation Therapy, or Interstitial Radiation Therapy for Clinically Localized Prostate Cancer. *JAMA* 1998; 280: 969–974.

de Bono J, Mateo J, Fizazi K, Hussain M. Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *NEJM* 2020; 382: 2091–2102.

Hussain M, Mateo J, Fizazi K, de Bono J. Survival with Olaparib in Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *NEJM* 2020; 383: 2345–2357.

Kirby M, Hirst C, Crawford ED. Characterising the castration-resistant prostate cancer population: A systematic review. *Int J Clin Pract* 2011; 65: 1180–1192.

Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, D. K. A.: AWMF S3-Leitlinie Prostatakarzinom Leitlinie (Langversion). Version 7.0. Mai 2024. AWMF-Registernummer: 043-022OL. <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/prostatakarzinom/>; Zugriff am 02.04.2025

Marshall CH, Sokolova AO, McNatty AL, Cheng HH, Eisenberger MA, Bryce AH, Schweizer MT, Antonarakis ES. Differential Response to Olaparib Treatment Among Men with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer Harboring BRCA1 or BRCA2 Versus ATM Mutations. *Eur Urol* 2019; 76: 452–458.

Mateo J, Carreira S, Sandhu S, ..., de Bono JS. DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. *NEJM* 2015, 373: 1697–1708.

Moreira DM, Howard LE, Sourbeer KN, Freedland SJ. Predicting Time From Metastasis to Overall Survival in Castration-Resistant Prostate Cancer: Results From SEARCH. *Clin Genitourin Cancer* 2017; 15: 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.clgc.2016.08.018>

Quigley DA, Dang HX, Zhao SG, ..., Feng FY. Genomic Hallmarks and Structural Variation in Metastatic Prostate Cancer. *Cell* 2018; 174: 758–769.

Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). (2023). *Krebs in Deutschland für 2019/2020*. 14. Ausgabe.

Robinson D, Van Allen EM, Wu YM, ..., Chinnaiyan AM. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell* 2015; 161: 1215–1228.

Saad F, Clarke NW, Oya M, Armstrong AJ. Olaparib plus abiraterone versus placebo plus abiraterone in metastatic castration-resistant prostate cancer (PROpel): final prespecified overall survival results of a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2023; 24: 1094–1108.

Shore ND, Laliberté F, Ionescu-Iltu R, Yang L, Mahendran M, Lejeune D, Yu LH, Burgents J, Duh MS, Ghate SR. Real-World Treatment Patterns and Overall Survival of Patients with Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer in the US Prior to PARP Inhibitors. *Adv in Ther* 2021; 38: 4520–4540.

Siegel RL, Kratzer TB, Giaquinto AN, Sung H, Jemal A. Cancer statistics, 2025. *CA Cancer J Clin* 2025; 75: 10–45.

Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* 2021; 71: 209–249.

Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H, ..., Gerald WL. Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell* 2010; 18: 11–22.

Wu YM, Cieřlik M, Lonigro RJ, Chinnaiyan AM. Inactivation of CDK12 Delineates a Distinct Immunogenic Class of Advanced Prostate Cancer. *Cell* 2018; 173: 1770–1782.

## 2. Veröffentlichung

Dieser Publikationsdissertation liegt die folgende, unabhängig begutachtete Veröffentlichung zugrunde:

Hommerding M, Hommerding O, Bernhardt M, Kreft T, Sanders C, Tischler V, Basitta P, Pelusi N, Wulf AL, Ohlmann CH, Ellinger J, Ritter M, Kristiansen G. Real-world data on the prevalence of BRCA1/2 and HRR gene mutations in patients with primary and metastatic castration resistant prostate cancer. *World J Urol* 2024; 42: 491.

<https://doi.org/10.1007/s00345-024-05188-7>

### **3. Erklärung zum Eigenanteil**

Die Arbeit wurde am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn unter Betreuung von Prof. Dr. med. Glen Kristiansen (Direktor des Instituts für Pathologie) durchgeführt.

Die Konzeption der Arbeit erfolgte durch Prof. Dr. med. Glen Kristiansen, Oliver Hommerding und Moritz Hommerding.

Das analysierte Probematerial stammte aus der Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie des Universitätsklinikums Bonn (Direktor: Prof. Dr. med. Manuel Ritter) sowie der Urologie der Johanniter-Kliniken Bonn (Chefarzt Prof. Dr. Carsten Ohlmann).

Die Erstellung der pathologischen Gutachten der eingesandten Proben erfolgte durch Oliver Hommerding, Marit Bernhardt, Tobias Kreft, Christine Sanders, Verena Tischler, Patrick Basitta, Natalie Pelusi und Anna-Lena Wulf.

Die Datenerhebung und -analyse erfolgte durch Moritz Hommerding.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig durch Oliver Hommerding und Moritz Hommerding.

Die Interpretation der Befunde erfolgte durch Prof. Dr. med. Glen Kristiansen, Oliver Hommerding und Moritz Hommerding.

Ich versichere, die Dissertationsschrift selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

#### **4. Danksagung**

An erster Stelle möchte Herrn Prof. Dr. med. Glen Kristiansen danken für die Möglichkeit diese Dissertation am Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Bonn anfertigen zu können.

Daneben gilt mein besonderer Dank meinem Bruder Dr. med. Oliver Hommerding für die große Unterstützung während der Anfertigung dieser Arbeit.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken für das stetige Vertrauen in und die Unterstützung bei meinem Lebensweg.

## 5. Publikation (PDF-Version)

World Journal of Urology (2024) 42:491  
<https://doi.org/10.1007/s00345-024-05188-7>

RESEARCH



### Real-world data on the prevalence of BRCA1/2 and HRR gene mutations in patients with primary and metastatic castration resistant prostate cancer

Moritz Hommerding<sup>1</sup> · Oliver Hommerding<sup>1</sup> · Marit Bernhardt<sup>1</sup> · Tobias Kreft<sup>1</sup> · Christine Sanders<sup>1</sup> · Verena Tischler<sup>1</sup> · Patrick Basitta<sup>1</sup> · Natalie Pelusi<sup>1</sup> · Anna-Lena Wulf<sup>1</sup> · Carsten-Henning Ohlmann<sup>3</sup> · Jörg Ellinger<sup>2</sup> · Manuel Ritter<sup>2</sup> · Glen Kristiansen<sup>1</sup>

Received: 16 May 2024 / Accepted: 19 July 2024 / Published online: 22 August 2024  
 © The Author(s) 2024

#### Abstract

**Purpose** This study seeks to contribute real-world data on the prevalence of BRCA1/2 and HRR gene mutations in prostate cancer.

**Methods** We compiled sequencing data of 197 cases of primary and metastatic prostate cancer, in which HRR mutation analysis was performed upon clinical request within the last 5 years. All cases were analyzed using a targeted NGS BRCAness multigene panel, including 8 HRR genes (ATM, BRCA1, BRCA2, CDK12, CHEK2, FANCA, HDAC2, PALB2).

**Results** Our findings reveal a prevalence of potentially targetable mutations based on FDA criteria of 20.8%, which is comparable to the literature. However, the frequency of targetable BRCA2 mutations within our cohort was lower than reported for mCRPC and ATM and CHEK2 mutations were more prevalent instead. Thus, while 20.8% ( $n=38$ ) of the cases meet the criteria for olaparib treatment per FDA approval, only 4.9% ( $n=9$ ) align with the eligibility criteria according to the EMA approval.

**Conclusion** This study offers valuable real-world insights into the landscape of BRCA1/2 and HRR gene mutations and the practical clinical management of HRR gene testing in prostate cancer, contributing to a better understanding of patient eligibility for PARPi treatment.

**Keywords** Prostate cancer · PARPi · BRCA2 · HRR · Olaparib

#### Introduction

In May 2020, the Food and Drug Administration (FDA) granted approval for olaparib (Lynparza) for patients diagnosed with metastatic castration-resistant prostate cancer

(mCRPC) possessing pathogenic or suspected pathogenic somatic or germline mutations in homologous recombination repair (HRR) genes. Specifically, this approval was extended to patients who had experienced disease progression following treatment with enzalutamide or abiraterone. Subsequently, the European Medicines Agency (EMA) endorsed olaparib for individuals harboring pathogenic or suspected pathogenic somatic or germline mutations in BRCA1/2 in November the same year. The phase 3 PROfound trial formed the basis for these regulatory decisions, demonstrated significant imaging-based progression-free survival (ibPFS) and overall survival benefits with olaparib in patients with mCRPC harboring BRCA1, BRCA2, and ATM mutations after disease progression on a next-generation hormonal agent [1]. In addition, significant ibPFS and a trend towards prolonged overall survival was seen in patients harboring alterations in other HRR genes [1, 2].

Moritz Hommerding and Oliver Hommerding contributed equally to this work.

✉ Glen Kristiansen  
[glen.kristiansen@ukbonn.de](mailto:glen.kristiansen@ukbonn.de)

<sup>1</sup> Institute of Pathology, University Hospital Bonn (UKB), Venusberg-Campus 1, Bonn 53127, Germany

<sup>2</sup> Department of Urology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany

<sup>3</sup> Department of Urology, Johanniter-Kliniken Bonn, Bonn, Germany

Furthermore, the PROpel trial's outcomes led to the approval of Olaparib in combination with abiraterone for mCRPC patients [3]. According to the EMA approval, BRCA1/2 and HRR gene testing is not mandated in this clinical context and chemotherapy must be contraindicated in these patients [4]. In contrast, proof of a BRCA1/2 mutation is required according to the FDA approval [5, 6]. In addition to the mutation test on tumor tissue, a mutation test on circulating tumor DNA (FoundationOne Liquid CDx; Foundation Medicine) was carried out in the PROpel trial, which allowed an increased detection of HRR gene alterations. [3] Other recent studies have led to approval of niraparib plus abiraterone and talazoparib plus enzalutamide in the same clinical setting [7, 8].

The prevalence of defects in DNA repair genes, particularly alterations in HRR genes, ranges from 19 to 33% among individuals with prostate cancer, depending on whether primary or metastatic tumor tissue is considered [9–11] BRCA2 alterations emerge as the most prevalent in metastatic disease [9–13].

An integrative assessment of 333 primary prostate cancers within the TCGA Research Network revealed inactivating alterations in DNA repair genes in approximately 19% of cases [11]. Notably, alterations in FANCD2 were most prevalent (7%), followed by ATM (4%), BRCA2 (3%), RAD51C (3%), CDK12 (2%), and BRCA1 (1%). While missense and truncating mutations were predominant for BRCA1, BRCA2, ATM, and CDK12, FANCD2 and

RAD51C exhibited mostly hemizygous and homozygous deletions.

The largest cohort of patients with mCRPC has been investigated by Robinson et al. [9] Using whole exome and transcriptome sequencing, targetable HRR alterations were found in 19.3% of the patients. BRCA2 alterations were most prevalent (12.7%) and 20% presented as homozygous deletions.

The TOPARP-A trial reported HRR gene alterations in 33% of cases in their cohort, with BRCA2 alterations being most common (14.3%) [14]. ATM alterations were found in 10.2% of patients, with diverse mutation types observed. The PROfound trial reported mutations predominantly in BRCA2, followed by ATM, CDK12, and few in CHEK2 [1].

The prevalence of germline mutations varies from 4.6% in localized disease to 16% in metastatic disease [9, 15, 16]. An unselected cohort of 692 patients with mCRPC demonstrated that about 11.8% harbored germline mutations in DNA repair genes, predominantly in HRR genes [15]. Of these, BRCA2 mutations were the most prevalent (5.3% of 11.8%). The PROREPAIR-B study found germline DNA repair mutations in 16% of 419 patients, primarily in BRCA2 (21%), ATM (12%), and BRCA1 (6%) [16].

Post the FDA and EMA approval of olaparib, numerous laboratories have initiated mutation analysis services for BRCA1/2 and HRR-related genes. This study aims to contribute real-world data on the prevalence of BRCA1/2 and HRR gene mutations in prostate cancer.

**Table 1** Clinicopathological data of the cohort

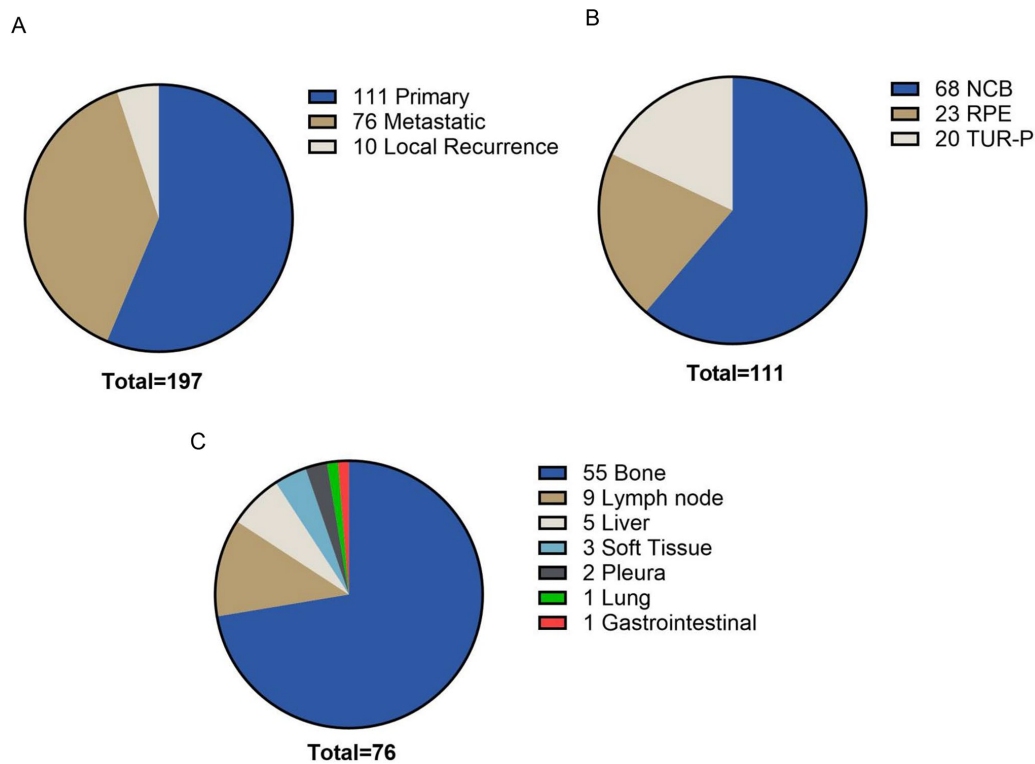
Clinical features	Finding ( <i>n</i> = 197)
Age, median (range), years	71 (39–89)
Initial PSA, ng/ml, median (range)	30 (0.3–10.000)
Pathological parameters	
Grade Group at initial diagnosis, median (range)	4 (1–5)
Grade group 1, <i>n</i> (%)	3 (1.5%)
Grade group 2, <i>n</i> (%)	18 (9.1%)
Grade group 3, <i>n</i> (%)	12 (6.1%)
Grade group 4, <i>n</i> (%)	37 (18.8%)
Grade group 5, <i>n</i> (%)	97 (49.2%)
unknown, <i>n</i> (%)	29 (14.2%)
RPE parameters	
Organ-confined disease, <i>n</i> (%)	Finding ( <i>n</i> = 55, 27.9%) 12 (21.8%)
Extraprostatic extension, <i>n</i> (%)	13 (23.6%)
Seminal vesicle involvement, <i>n</i> (%)	29 (52.7%)
Infiltration of bladder, pelvic wall, rectum	1 (1.8%)
Lymph node positive, <i>n</i> (%)	21 (38.2%)
Positive margins, <i>n</i> (%)	28 (50.9%)
Tumor sample age, mean, years (range, sd)	2.1 (0–21, 3.7)
Time from initial diagnosis to HRR testing, years (range, sd)	5.4 (0–22, 5.2)

## Materials and methods

### Case selection and clinicopathological data of the cohort

197 cases of primary and metastatic prostate cancer were analyzed using a targeted NGS BRCAness multigene panel between September 2018 and December 2023 at the Institute of Pathology, University Hospital Bonn, upon clinical request. The clinicopathological data of the cohort is summarized in Table 1.

The median patient's age was 71 (range 39–89). The median initial PSA value was 30 ng/ml (range 0.3–10.000). The median ISUP grade at the initial diagnosis was 4 (range 1–5). The samples included primary tumor tissue, metastatic tumor tissue and tissue from local recurrences (Fig. 1). The majority of patients were clinically mCRPC at the timepoint of HRR testing (*n* = 171, 86.8%). For a subset of the patients a recent tumor sample obtained in the setting of mCRPC was analyzed (40.1% (*n* = 79)). For the remaining patients, primary tissue from the initial diagnosis was investigated.



**Fig. 1** The distribution of tumor samples tested for HRR alterations. (A) Primary tumor samples were the preferred type of tumor tissue tested for HRR alterations ( $n=111$ ), followed by metastatic tumor tissue ( $n=76$ ) and tumor tissue from local recurrences ( $n=10$ ). (B) Needle core biopsies (NCB) from the initial diagnosis of prostate cancer were the preferred material tested for HRR alteration ( $n=68$ ),

followed by radical prostatectomy specimen (RPE) ( $n=23$ ) and transurethral resection specimen (TUR-P) ( $n=20$ ). (C) Bone metastases were the most common material tested for HRR alterations ( $n=55$ ), followed by distant lymph node metastases ( $n=9$ ), liver metastases ( $n=5$ ), soft tissue metastases ( $n=3$ ), pleural metastases ( $n=2$ ). Lastly, one lung metastasis and one gastrointestinal metastasis were analyzed

Pathological data from radical prostatectomy specimen was available for 55 patients. 42 (76.4%) patients showed non-organ-confined disease, 21 (38.2%) showed positive lymph nodes and 28 (50.9%) had positive resection margins. The mean tumor sample age was 2.1 years (range 0–21). The mean time from the initial diagnosis to molecular testing was 5.4 years (range 0–22).

All data was acquired prospectively during patient care, rendering a specific ethics votum not necessary.

#### Sample preparation, DNA isolation, sequencing and data analysis

Suitable tumor areas were grossly dissected after histological review of the slides by a board certified pathologist and the epithelial cellularity was recorded. DNA extraction was conducted with the Maxwell RSC DNA FFPE

Kit (Promega, Madison, Wisconsin, US). Next generation sequencing was performed using a QIAseq™ targeted DNA BRCAness custom panel (Qiagen, Hilden, Germany) including 8 genes involved in homologous recombination repair as follows: ATM, BRCA1, BRCA2, CDK12, CHEK2, FANCA, HDAC2, PALB2. All coding sequences were analyzed comprising a total of 38,450 bp. Generation of multiplex amplicons and library preparation including unique molecular identifiers was performed according to the manufacturer's recommendations. Next generation sequencing was performed on a MiSeq sequencer with a coverage of > 100 (Illumina, San Diego, US). Data was analyzed with the CLC Genomics Workbench/Server (Qiagen Bioinformatics, Hilden, Germany). Coding-synonymous variants, intronic variants not involving consensus splice sites and variants with a population allele frequency of > 1% were filtered. Variants called benign in databases were

not reported. Pathogenic and likely pathogenic mutations with an allele frequency of  $\geq 5\%$  were reported. Classification of variants was performed according to the following databases: dbSNP, ExAC, COSMIC, ClinVar, OncoKB, UMD-BRCA1/2 Databases (University of Utah BRCA1/2 databases).

### Statistical analysis and software

Statistical analysis was performed using Prism, Version 10.2.2 (GraphPad Software, Boston, US). Chi-square test was used for comparing the prevalence of mutations in metastatic and primary tumor tissue. Graphs were generated with Prism, Version 10.2.2 (GraphPad Software, Boston, US).

### Results

In this study, we compiled BRCA1/2 and HRR sequencing data of 197 cases of primary and metastatic prostate cancer.

The distribution of tumor tissue tested revealed a predominant analysis of primary tumor tissue ( $n=111$ , 56.3%) in contrast to metastatic tumor tissue ( $n=76$ , 38.6%) and tumor tissue from local recurrences ( $n=10$ , 5.1%) (Fig. 1A). The preferred sources for primary tumor testing included prostate needle core biopsies ( $n=68$ , 34.5%), followed by radical prostatectomy (RPE) specimens ( $n=23$ , 11.7%) and transurethral resection (TUR) specimens ( $n=20$ , 10.2%) (Fig. 1B).

Bone metastases ( $n=55$ , 27.9%) were the most common metastatic tumor tissue followed by distant lymph node metastases ( $n=9$ , 4.6%), hepatic metastases ( $n=5$ , 2.5%) and infrequent metastatic sites such as pleura, lung, gastrointestinal tract or soft tissue metastases (in total  $n=7$ , 3.6%) (Fig. 1C).

The majority of patients were clinically mCRPC at the timepoint of HRR testing ( $n=171$ , 86.8%). However, only in a subset of those patients a recent tumor sample obtained in the setting of mCRPC was analyzed (40.1% ( $n=79$ )). For the remaining patients, primary tissue from the initial diagnosis, such as needle core biopsies, RPE specimen and TUR specimen, was investigated, which is considered hormone-sensitive tumors.

A subset of cases ( $n=14$ , 7.1%) exhibited insufficient DNA quality. Intriguingly, almost all ( $n=13$ ) instances of insufficient quality pertained to primary tumor samples. The mean sample age of the primary samples with insufficient DNA quality was greater compared to the mean sample age of the primary samples with sufficient DNA quality (8.1 years vs. 3.0 years). Therefore, the insufficient quality can likely be attributed to the sample age. In contrast, metastatic

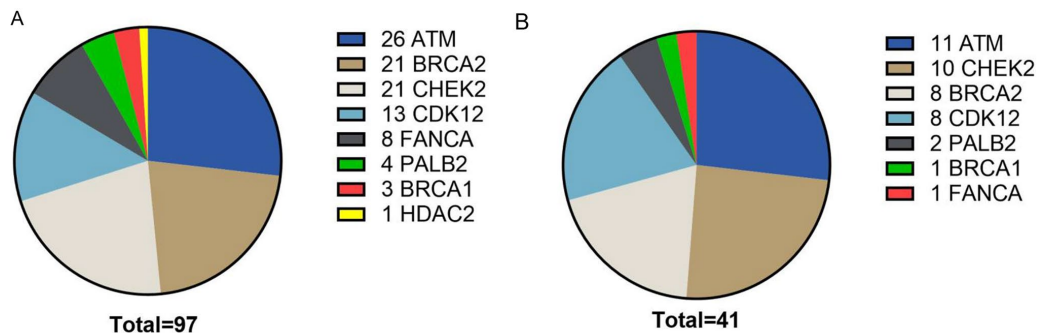
tissue samples uniformly exhibited adequate sequencing quality. One case of a local recurrence, sampled via needle core biopsy, showed insufficient quality as well.

Among the 183 cases subjected to comprehensive variant analysis, 79 cases (43.2%) manifested at least one suspected benign variant, variant of unknown significance, suspected pathogenic mutation or pathogenic mutation. Unambiguous benign variants were not reported. The distribution of cases with mutations indicated a prevalence of single mutations in 55 cases (30.0%), double mutations in 17 cases (9.3%), and triple mutations in 7 cases (3.8%), accounting for a total of 110 mutations.

The mutations, including suspected benign variants, variants of unknown significance, suspected pathogenic or pathogenic mutations, were distributed among the cases as follows (Fig. 2A): 26 showed ATM mutations (14.2%), 21 showed BRCA2 mutations (11.5%), 21 showed CHEK2 mutations (11.5%), 13 showed CDK12 mutations (7.1%), 8 showed FANCA mutations (4.4%), 4 showed PALB2 mutations (2.2%), 3 showed BRCA1 mutations (1.6%), and 1 showed a HDAC2 mutation (0.5%). Notably, slightly less than a half of these mutations (43.6%,  $n=48$ ) were deemed pathogenic or suspected pathogenic according to pertinent databases, suggesting potential targetability. As anticipated, the prevalence of pathogenic or suspected pathogenic mutations was higher in metastatic tumor tissue compared to primary tumor tissue (25.0% vs. 19.4%), although this was not statistically significant ( $p$ -value 0.37). No pathogenic or suspected pathogenic mutations could be detected in tumor tissue from local recurrences ( $n=9$ ). Further analysis discerned that pathogenic or suspected pathogenic mutations were distributed as follows (Fig. 2B): 11 ATM mutations (6.0%), 10 CHEK2 mutations (5.5%), 8 BRCA2 mutations (4.4%), 8 CDK12 mutations (4.4%), 2 PALB2 mutations (1.1%), 1 FANCA mutation (0.6%), and 1 BRCA1 mutation (0.6%). No pathogenic or suspected pathogenic HDAC2 mutations were identified. In total, 38 out of 183 cases (20.8%) exhibited a potentially targetable mutation, while the remainder showcased variants of unknown significance ( $n=37$ , 20.2%) or suspected benign variants ( $n=4$ , 2.2%).

### Discussion

The positive outcomes observed in the PROfound trial have prompted a clinical imperative for testing BRCA1/2 and homologous recombination repair (HRR) gene mutations in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) [1]. The prevalence of HRR mutations in prostate cancer has been documented in numerous studies, demonstrating variations depending upon the origin of the tissue, whether primary or metastatic and the stage of disease



**Fig. 2** The distribution of HRR gene mutations. (A) Depiction of all HRR mutations found, including suspected benign variants, variants of unknown significance, suspected pathogenic and pathogenic mutations. ATM ( $n=26$ ) mutations were most prevalent, followed by mutation in BRCA2 ( $n=21$ ), CHEK2 ( $n=21$ ), CDK12 ( $n=13$ ), FANCA ( $n=8$ ), PALB2 ( $n=4$ ), BRCA1 ( $n=3$ ) and HDAC2 ( $n=1$ ). (B)

Depiction of suspected pathogenic and pathogenic HRR mutations. ATM ( $n=11$ ) mutations were most prevalent, followed by mutation in CHEK2 ( $n=10$ ), BRCA2 ( $n=8$ ), CDK12 ( $n=8$ ), PALB2 ( $n=2$ ), BRCA1 ( $n=1$ ) and FANCA ( $n=1$ ). No suspected pathogenic or pathogenic mutations in HDAC2 were found

[9–12, 14]. A large study on primary hormone-sensitive prostate cancer documented targetable HRR alterations in about 19% of cases, while the prevalence in mCRPC ranges from 19 to 33% [9–11, 14]. Herein, we present real-world data derived from the analysis of 197 prostate cancer cases over a 5-year period within a single institution.

Within our cohort, the prevalence of pathogenic or suspected pathogenic mutations was determined to be 20.8% ( $n=38$ ), in accordance with published data. However, in contrast to published data, the distribution of the mutations differed substantially. Our findings reveal a predominance of targetable mutations in ATM, succeeded by mutations in CHEK2 and BRCA2. Thus, targetable BRCA2 mutations were less frequently identified in our cohort. According to the literature, the prevalence of BRCA2 alterations in primary prostate cancer is significantly lower than that in mCRPC [9, 11]. The cohort presented here consists of a mixture of primary and metastatic castration-resistant tumors, which is a valid explanation for the lower prevalence of BRCA2 mutations. In concordance to the literature, BRCA1 mutations were found in less than 1% of all cases. In the context of olaparib treatment, this signifies that 20.8% ( $n=38$ ) meet the criteria for treatment per FDA approval, whereas only 4.9% ( $n=9$ ) align with the eligibility criteria for olaparib treatment according to EMA approval.

The prevalence of ATM mutations in our study is similar to that described in the literature. In mCRPC, ATM mutations are present in 5–8%, while the prevalence is two-fold lower in primary prostate cancer [9, 11, 15, 17]. ATM germline mutations are potential prognostic biomarkers because they are enriched in patients with lethal and high grade disease [18, 19]. However, this association has not been verified for somatic mutations. In addition to its role as a potential

prognostic biomarker, ATM status was also described as a predictive biomarker regarding treatment response to olaparib in the initial studies [20, 21]. Yet, recent studies on PARP inhibition therapy in mCRPC indicate, that the response rate of ATM mutated tumors is lower than that of BRCA2 mutated tumors [1, 22–26].

Our data also sheds light on practical clinical management involving this novel diagnostic test. It is the metastatic tumor manifestation that drives disease progression in prostate cancer. In accordance with the published data, the prevalence of potentially treatment relevant mutations in our cohort was slightly higher in metastatic tumor tissue compared to primary tumor tissue (19.4% vs. 25.0%), although this was not statistically significant. Furthermore, primary tumor tissue exhibited greater instances of insufficient quality, likely attributable to inadequate DNA quality. Consequently, it advises to consider harvesting metastatic tumor tissue as the preferred material for optimal treatment planning. Despite this, within our cohort of 197 cases, mutation analysis was predominantly conducted on primary tumor tissue, possibly because metastatic tumor biopsy for molecular testing is still not common practice. Also, as clinicians are aware of the fact, that in nearly half of the cases HRR alterations constitute germline defects, they prefer to resort to the already existing biopsy material. However, the data of this study suggests that an additional biopsy of a bone metastasis has the potential benefit of obtaining tumor tissue with an adequate DNA quality and a slightly higher likelihood of detecting a targetable mutation.

A limitation of our study lies in the absence of data on genomic deletions, which are challenging to reliably detect using next-generation sequencing. This might also account

for the comparatively lower number of alterations identified, particularly in BRCA2.

In conclusion, this uniconcentric analysis of BRCA1/2 and HRR gene mutations in prostate cancer, analyzed over a 5-year period, found a lower prevalence of BRCA2 mutations than previously reported: only 4.9% are deemed eligible for olaparib treatment as per EMA approval.

**Author contributions** Moritz Hommerding, Oliver Hommerding, Glen Kristiansen: Project development, data collection, data analysis, manuscript writing and manuscript editing. Marit Bernhardt, Tobias Kreft, Christine Sanders, Verena Tischler, Patrick Basitta, Natalie Pelusi, Anna-Lena Wulf: data collection and data analysis, manuscript editing. Carsten-Henning Ohlmann, Jörg Ellinger, Manuel Ritter: data collection, manuscript editing.

**Funding** Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

## Declarations

**Conflict of interest** The authors declare no conflict of interest.

**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

## References

- de Bono J, Mateo J, Fizazi K et al (2020) Olaparib for metastatic castration-resistant prostate Cancer. *N Engl J Med* 382:2091–2102. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1911440>
- Hussain M, Mateo J, Fizazi K et al (2020) Survival with Olaparib in Metastatic Castration-resistant prostate Cancer. *N Engl J Med* 383:2345–2357. <https://doi.org/10.1056/nejmoa2022485>
- Saad F, Clarke NW, Oya M et al (2023) Olaparib plus abiraterone versus placebo plus abiraterone in metastatic castration-resistant prostate cancer (PROpel): final prespecified overall survival results of a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 24:1094–1108. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(23\)00382-0](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(23)00382-0)
- European Medicines Agency Lynparza Product Information. [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lynparza-epar-product-information\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lynparza-epar-product-information_en.pdf)
- Fallah J, Xu J, Weinstock C et al (2024) FDA approval Summary: Olaparib in Combination with Abiraterone for treatment of patients with BRCA -Mutated metastatic castration-resistant prostate Cancer. *J Clin Oncol* 42:605–613. <https://doi.org/10.1200/JCO.23.01868>
- US Food and Drug Administration: FDA approves olaparib with abiraterone and prednisone (or prednisolone) for BRCA-mutated metastatic castration-resistant prostate cancer (2023) <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/fda-approves-olaparib-abiraterone-and-prednisone-or-prednisolone-brca-mutated-metastatic-castration>
- Chi KN, Sandhu S, Smith MR et al (2023) Niraparib plus abiraterone acetate with prednisone in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer and homologous recombination repair gene alterations: second interim analysis of the randomized phase III MAGNITUDE trial. *Ann Oncol* 34:772–782. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2023.06.009>
- Agarwal N, Azad AA, Carles J et al (2023) Talazoparib plus Enzalutamide in men with first-line metastatic castration-resistant prostate cancer (TALAPRO-2): a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 402:291–303. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01055-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01055-3)
- Robinson D, Van Allen EM, Wu YM et al (2015) Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell* 161:1215–1228. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.05.001>
- Taylor BS, Schultz N, Hieronymus H et al (2010) Integrative genomic profiling of human prostate cancer. *Cancer Cell* 18:11–22. <https://doi.org/10.1016/J.CCR.2010.05.026>
- Abeshouse A, Ahn J, Akbani R et al (2015) The Molecular Taxonomy of primary prostate Cancer. *Cell* 163:1011–1025. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.025>
- Quigley DA, Dang HX, Zhao SG et al (2018) Genomic Hallmarks and Structural Variation in metastatic prostate Cancer. *Cell* 174:758–769e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.039>
- Armenia J, Wankowicz SAM, Liu D et al (2018) The long tail of oncogenic drivers in prostate cancer. *Nat Genet* 50:645–651. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0078-z>
- Mateo J, Carreira S, Sandhu S et al (2015) DNA-Repair defects and Olaparib in metastatic prostate Cancer. *N Engl J Med* 373:1697–1708. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1506859>
- Pritchard CC, Mateo J, Walsh MF et al (2016) Inherited DNA-Repair gene mutations in men with metastatic prostate Cancer. *N Engl J Med* 375:443–453. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1603144>
- Castro E, Romero-Laorden N, Del Pozo A et al (2019) PROREPAIR-B: a prospective cohort study of the impact of germline DNA repair mutations on the outcomes of patients with metastatic castration-resistant prostate Cancer. *J Clin Oncol* 37:490–503. <https://doi.org/10.1200/JCO.18.00358>
- Abida W, Cyrta J, Heller G et al (2019) Genomic correlates of clinical outcome in advanced prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116:11428–11436. <https://doi.org/10.1073/pnas.1902651116/-/DCSupplemental>
- Wu Y, Yu H, Li S et al (2020) Rare germline pathogenic mutations of DNA repair genes are most strongly Associated with Grade Group 5 prostate Cancer. *Eur Urol Oncol* 3:224–230. <https://doi.org/10.1016/j.euo.2019.12.003>
- Na R, Zheng SL, Han M et al (2017) Germline mutations in ATM and BRCA1/2 Distinguish Risk for Lethal and indolent prostate Cancer and are Associated with early age at death. *Eur Urol* 71:740–747. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.11.033>
- Mateo J, Boysen G, Barbieri CE et al (2017) DNA repair in prostate Cancer: Biology and Clinical implications. *Eur Urol* 71:417–425. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.08.037>
- Mateo J, Porta N, Bianchini D et al (2020) Olaparib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer with DNA repair gene aberrations (TOPARP-B): a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 21:162–174. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30684-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30684-9)
- Abida W, Campbell D, Patnaik A et al (2019) 846PD - preliminary results from the TRITON2 study of rucaparib in patients (pts) with DNA damage repair (DDR)-deficient metastatic

- castration-resistant prostate cancer (mCRPC): updated analyses. *Ann Oncol* 30:v327–v328. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz248.003>
23. Smith MR, Scher HI, Sandhu S et al (2022) Niraparib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer and DNA repair gene defects (GALAHAD): a multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 23:362–373. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(21\)00757-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(21)00757-9)
  24. Marshall CH, Sokolova AO, McNatty AL et al (2019) Differential Response to Olaparib Treatment among men with metastatic castration-resistant prostate Cancer harboring BRCA1 or BRCA2 Versus ATM mutations. *Eur Urol* 76:452–458. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2019.02.002>
  25. De Bono JS, Mehra N, Higoano CS et al (2020) TALAPRO-1: a phase II study of talazoparib (TALA) in men with DNA damage repair mutations (DDRmut) and metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC)—First interim analysis (IA). *J Clin Oncol* 38:119. [https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.6\\_suppl.119](https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.6_suppl.119)
  26. Luo J, Antonarakis ES (2019) PARP inhibition — not all gene mutations are created equal. *Nat Rev Urol* 16:4–6. <https://doi.org/10.1038/s41585-018-0129-3>

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.